

Aus der Orthopädischen Klinik
der Justus Liebig-Universität Giessen
Direktor: Professor Dr. med. Rettig

**Quantitativ-morphologische Untersuchungen
zur Inaktivitätsosteoporose**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Giessen

vorgelegt von
Armin Scholz
aus Darmstadt

Giessen 1969



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545915_0076

Aus der Orthopädischen Klinik
der Justus Liebig-Universität Giessen
Direktor: Professor Dr. med. Rettig

**Quantitativ-morphologische Untersuchungen
zur Inaktivitätsosteoporose**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Giessen

vorgelegt von
Armin Scholz
aus Darmstadt

Giessen 1969



Dekan: Prof. Dr. med. H. Rettig
Referent: Priv.-Doz. Dr. med. J. Eichler
Korreferent: Prof. Dr. med. A. Oksche

Meiner Frau gewidmet

DISPOSITION

	Seite
I EINLEITUNG	4
A Historischer Überblick	4
B Gegenwärtiger Stand der Forschung	6
C Begründung und Thema der eigenen Arbeit	9
II MATERIAL UND METHODIK	11
A Versuchsanordnung	11
B Meßmethoden	22
a) Osteonstatistik	22
b) Osteoidsaumindex	23
c) Durchschnittliche jährliche Anbaurate	23
III ERGEBNISSE	29
A Osteonstatistik	29
B Osteoidsaumindex	34
C Durchschnittliche jährliche Anbaurate	38
IV DISKUSSION	44
A Methodische Fehler	44
B Osteonstatistik	45
C Osteoidsaumindex	46
D Durchschnittliche jährliche Anbaurate	46
E Schlußfolgerungen	47
V ZUSAMMENFASSUNG	51
SUMMARY	52
VI ANHANG: Statistik	53
VII LITERATURVERZEICHNIS	59

I EINLEITUNG

A Historischer Überblick

Über das Thema der Inaktivitätsosteoporose wurde in Arbeiten von EICHLER, EGER, WILLERT und SCHENK berichtet. Die Methode der Tetracyclinmarkierung, die wesentlich zur Aufklärung dieser Knochenerkrankung beigetragen hat, ist in ihrem geschichtlichen Werdegang erwähnenswert.

DUGGAR (1948) entdeckte die Tetracycline als Antibiotika. Bald danach stellte man fest, dass Tetracycline in vivo durch UV-Bestrahlung gelbes Licht emittieren. HELANDER und BÖTTIGER (1953) beschrieben den Speicherungseffekt der Tetracycline im Körper, den sie bei Versuchen mit Ratten festgestellt hatten. MILCH, RALL und TOBIE (1957) zeigten, dass die Tetracycline unterschiedlich von den einzelnen Geweben festgehalten werden, und zwar im Durchschnitt 72 Stunden - vom Knochen jedoch 6 Monate. KELLY (1961), URIST (1962) und FINERMANN (1963) bestätigten diese Tatsache durch die Feststellung, dass Tetracycline wie Calciumionen am Ort der Neubildung eingelagert werden.

Nach FROST (1960), EGER (1962) und VITALLI (1964) finden sich schon nach einmaliger Applikation therapeutischer Mengen an Jugendlichen, Tetracyclineinlagerungen in Appositionszonen, Kompakta, Spongiosa und auch Zähnen. FROST, SEDLIN (1962) und KEIL (1965) konnten noch nach

11 Jahren Tetracyclin in Knochengewebe nachweisen.

Durch die Einführung der Tetracyclinmarkierung haben die grundlegenden Arbeiten von FROST und seinen Mitarbeitern, sowie HAAS und SCHENK den größten Fortschritt in der morphologischen Analyse der Vorgänge im Skelet gebracht.

■ Gegenwärtiger Stand der Forschung

Zur Untersuchung von Knochensystemerkrankungen stehen uns heute mehrere Methoden zur Verfügung wie:

konventionelle Labormethoden, Stoffwechselbilanzen, Bestimmung der Calciumbindungsfähigkeit des Skelets mittels Calciuminfusion, konventionelle Röntgentechnik, Densitometrie, Skeletuntersuchung mit körperfremden Mineralien, wie stabilem Strontium, radioaktivem Calcium- und Strontiumisotopen, Nachweis organischer Metaboliten des Knochenstoffwechsels, wie Citrat und Hydroxyprolin, konventionelle Knochenbiopsie und chemische Knochenanalysen.

Der Serumchemismus erlaubt nur eine statische Diagnose des Skeletleidens, er sagt also nichts über die Entwicklungstendenz der Erkrankung aus.

Die Röntgendiagnostik hat außer der Strahlenbelastung den Nachteil, dass erst ein Mineralverlust von 30 - 50 % erkennbar ist. Die Densitometrie ist zu wenig standardisiert.

Die Radiocalciumuntersuchung ist mit großen methodischen Fehlern belastet. Stabiles Strontium diffundiert nämlich viel schwerer durch Membranen als Calcium; radioaktives Calcium⁴⁵ hat eine sehr lange Halbwertszeit, so dass seine Anwendung bei Menschen nicht unbedenklich ist.

Radioaktives Calcium⁴⁷ ist wegen seiner kurzen Halbwerts-

zeit von 4,8 Tagen meist schwierig zu beschaffen. Es ist weiterhin umstritten, ob die durch diese Methode gefundene Knochenzuwachsrate - bone accretion rate - den wirklichen Knochenanbau oder nur Austauschvorgänge von Mineralien widerspiegelt. Die Scintigraphie über geeigneten Knochenpartien (Patella) erlaubt zwar einen guten Einblick, ist jedoch technisch schwer durchzuführen.

Zur Diagnose von generalisierten Knochenstoffwechselkrankheiten hat sich die Messung der Calciumretention, der Höhe der alkalischen Phosphatase und des Grades der Hypercalcurie bewährt. Um jedoch eine lokale Diagnose von Knochenerkrankungen zu stellen, reichen die aufgezählten Methoden nicht aus.

Eine unschädliche und zugleich einfache Methode, diese Stoffwechselerkrankungen zu erfassen, wurde durch die Entdeckung der Tetracycline, bzw. eine ihrer zufällig gefundenen Nebenwirkungen, möglich gemacht.

Neben ihrer antibiotischen Wirkung haben die Tetracycline die Eigenschaft, bei Blaulichtanregung gelbes Licht zu emittieren. Außerdem werden sie wie Calciumionen am Ort der Knochenneubildung - den osteoiden Säumen - eingelagert und gespeichert. Diese Tatsachen haben sich FROST und Mitarbeiter zunutze gemacht und eine Methode entwickelt, die es erlaubt, am Knochen normale und gestörte An- und Abbauvorgänge örtlich und zeitlich zu beurteilen.

In osteoiden Säumen der anbauenden Osteone wird Tetra-

cyclin gespeichert. Dadurch zeigen diese Osteone unter Blaulichtanregung auch noch nach längerer Zeit einen gelben Tetracyclinsaum, der dem Osteoidsaum zum Zeitpunkt der Tetracyclinapplikation entspricht; dies macht eine qualitative Untersuchung des Knochens möglich. Der Knochen wird in Form von Lamellen, die sich von außen nach innen um einen Knochenkanal legen, gebildet. Bei mehrmaliger Tetracyclinapplikation sieht man bei anbauenden Osteonen je einen solchen markierten osteoiden Saum und dazwischen die Knochenmenge, die in der Zwischenzeit gebildet wurde (Abb. 8). Dadurch kann man quantitativ den Knochenanbau bestimmen.

Darüber hinaus hat die Biopsie nach intravitaler Tetracyclinmarkierung den Vorteil, pathologische Zusammenhänge des Knochenumsatzes zu beurteilen und somit eine Therapie auf ihren Erfolg hin zu kontrollieren.

Die von FROST, SCHENK und HAAS angestellten morphologischen Analysen der Vorgänge im Skelet beruhen auf der Tetracyclinmarkierung. Speziell zur Feststellung pathologischer Vorgänge im Knochenumsatz bei der Inaktivitätsosteoporose wurde diese Methode von EICHLER angewandt.

C Begründung der eigenen Arbeit

Wie sich in der Klinik gezeigt hat, stellt eine über mehrere Monate dauernde Behandlung mit Gipsverbänden, wie sie bei Klumpfuß, Hüftluxation oder nach operativer Korrektur von Mißbildungen teilweise heute noch notwendig ist, ein Problem dar. Es kommt nach längeren Immobilisationszeiten nicht selten zu Spontanfrakturen, Kalkablagerungen in Weichteilen und Wachstumsrückständen.

Um dem Einwand zu entgegnen, es handele sich bei oben angeführten Komplikationen nach längerer Ruhigstellung um bereits kranke Knochen, hat EICHLER versucht, durch quantitativ-morphologische Untersuchungen zu beweisen, dass auch an gesunden Knochen nach kurzer Immobilisationszeit von 3 Wochen eine Schädigung durch Inaktivität entsteht - nämlich eine Inaktivitätsosteoporose.

Dazu muß zunächst der Begriff der Osteoporose näher erläutert werden:

In älteren Lehrbüchern wird die Osteoporose als ein Verlust an Knochengewebe zugunsten des Knochenmarks bei äußeren unveränderten Dimensionen definiert, oder man spricht von einer Osteoporose, wenn die Hartsubstanz auf 60 % verringert ist.

HAAS und WAGNER betonen in ihren Arbeiten, dass der Begriff der Osteoporose nicht nur statisch betrachtet werden darf; denn der Übergang vom gesunden zum osteoporotischen Knochen ist sowohl fließend, als auch vom

Geschlecht, anatomischer Konstitution, Lebensalter, physischer Arbeitsleistung und vielen anderen Faktoren abhängig.

Es muß nach Kriterien gesucht werden, den Begriff der Osteoporose neu - nämlich dynamisch - zu definieren. Auch zu diesem Problem soll die vorliegende Arbeit einen Beitrag leisten.

II MATERIAL UND METHODIK

A Versuchsanordnung

Die Untersuchungen wurden an 40 reinrassigen Albino-Meerschweinchen vom Stamm Pirbright white durchgeführt, und zwar an 20 Tieren mit einem Gewicht von 170 bis 266 g (Tab. 1) und an 20 Tieren mit einem Gewicht von 400 bis 571 g (Tab. 2). Nach den Äußerungen von TANNER können verschiedene Reifeklassen der Meerschweinchen, definiert durch ihre Gewichtsklassen, den bekannten Entwicklungsstadien des Menschen wie Kindheit, Pubertät und Erwachsenenalter, zugeordnet werden.

Um Zyklusschwankungen zu vermeiden, verwendeten wir männliche Tiere. Sie wurden zunächst 14 Tage lang an den Käfig und die Futterumstellung gewöhnt (Abb. 3). Die Tiere wurden mit Meerschweinchenmischfutter "Altromin" der Firma Altromin GmbH, Lage/Lippe, gefüttert, dessen Bestandteile

20,13 % Rohproteine, 12,07 % Rohfasern,
4,76 % Fett, 7,42 % Asche und
48,32 % N -freie Extraktstoffe

sind. Ihre flüssige Nahrung bestand aus Trinkwasser in dem pro Liter eine Tablette Cebion aufgelöst war. Das entspricht einer 1-%igen Vitamin C-Lösung.

Da das Meerschweinchen nicht in der Lage ist, Ascorbinsäure zu synthetisieren, mußte unbedingt auf eine reich-

liche Vitamin-C-Zufuhr geachtet werden, um die Gefahr der Scorbutkrankheit, die mit einer Osteoporose einhergeht, auszuschalten.

Danach wurden die unteren Extremitäten von 20 Versuchstieren durch Beckengips in Lorenz-Stellung - Beugung und Abduktion der Hüften um 90°, rechtwinklige Kniebeugung und Mittelstellung im Sprunggelenk - ruhiggestellt. (Abb. 1 und 2). Diese Art der Ruhigstellung wird normalerweise zur Behandlung kindlicher Hüftluxation angewendet. Bei unseren Versuchen verhinderte diese Art "Froschstellung", dass die Tiere mit den unteren Extremitäten aus dem Gips herausschlüpften.

Wir nahmen Cellonagips, der schneller trocknet als die Cellaminbinden und sich auch nach Versuchsende besser entfernen läßt, wodurch Spontanfrakturen vermieden werden. Den Tieren wurde in Äther-Narkose ein Beckengipsverband angelegt.

Bei der Ruhigstellung wurde besonders darauf geachtet, dass der Gips nicht zu fest sitzt, damit keine Druckatrophien entstehen können. Außerdem wurde eine kleine Stütze an der Unterseite des Gipses angebracht. Die Tiere konnten dadurch erstaunlich gut im Käfig "herumrobber". Der Gipsverband wurde an der Genitalregion soweit wie möglich ausgeschnitten, um eine Verschmutzung mit Exkrementen weitgehend zu vermeiden. Die Ställe der Versuchstiere mußten reinlicher gehalten werden als die der Kontrolltiere. Sie wurden täglich morgens und abends gestäubert.

Die Tiere erhielten kurz nach Anlegen des Gipsverbandes 10 mg Reverin^R- Pyrrolidino-methyl-tetracyclin - pro kg Körpergewicht intramuskulär injiziert. Eine zweite Applikation von Reverin^R führten wir am 10. Versuchstag durch. Drei Wochen nach Anlegen des Beckengipsverbandes wurden die Tiere getötet.

Nach dem exitus letalis der Tiere wurden die unteren Extremitäten skelettiert. Nun wurden die Femurenden nach der Methode von FROST gefärbt:

- mit 80-%igem Alkohol fixiert für je zwei Tage in ein Gemisch von 40-%igem Alkohol und 5-%igem basischem Fuchsin, 70-%igem Alkohol und 5-%igem basischem Fuchsin und 96-%igem Alkohol und 5-%igem basischem Fuchsin legen
- in Xylol 2 Tage lang spülen, bis keine überflüssige Farbe abgeht
- mit Methacrylsäuremethylester - kurz Methacrylat - im Kühlschrank bei + 4° C vier Wochen lang durchtränken.
- zu den durchtränkten Femurenden erneut Methacrylat in kleine Gläschen schütten und bei Zimmertemperatur 14 Tage auspolymerisieren lassen.

Mit dem Sägemikrotom nach WAGNER (Hersteller Firma Jung AG, Heidelberg, Abb. 4) wurden in mittlerer Höhe des Femurs bei reduzierter, konstanter Geschwindigkeit unentkalkte Knochenquerschnitte von 150 bis 200 μm hergestellt. Diese Knochenstücke wurden nach einer bisher unveröffentlichten Methode von EICHLER bis zu einer Dicke von 10 bis 20 μm geschliffen.

Eingedeckt wurden die Schliffe mit Eukitt. -

Zunächst wurde die Fläche der Corticalis gemessen und danach unter dem Fluoreszenzmikroskop die einzelnen Osteonarten ausgezählt.

Ein Osteon - oder Haver'sches System - ist ein in der Längsrichtung den Knochen durchlaufendes Gefäßkanälchen, welches von konzentrischen Knochenlamellen umgeben ist. Osteone liegen in drei Funktionszuständen vor:

a) anbauend

um einen Knochenkanal legen sich bei den anbauenden Osteonen von außen nach innen kreisförmige Knochenlamellen bis schließlich nur ein kleiner Kanal mit dem Haver'schen Gefäß übrig bleibt.

b) abbauend

der Abbau geschieht von zentral nach peripher durch Osteoklasten, die durch das Haver'sche Gefäß antransportiert werden. Es entsteht dadurch die Form der abbauenden Osteone.

c) ruhend

die ruhenden Osteone kann man als nicht mehr aktive anbauende Osteone betrachten.

Um die Fläche der Anbauzonen der einzelnen wachsenden Osteone zu bestimmen, wurden diese mit der Mikroskopkamera "Orthomat" (Abb. 5) von Leitz/Wetzlar fotografiert. Wir benutzten dazu ein Objektiv mit 25-facher Vergrößerung, einen Film KB 14 DIN (Agfa) und stellten die Mikroskopkamera auf 18 DIN, 70 %, Detailmessung und Dunkelfeld ein (s. Anleitung Leitz/Wetzlar Nr. 54-19 a). Die Negative wurden dann mit einem Projektor auf Papier projiziert und abgezeichnet. Die zu bestimmenden Flächen wurden ausgeschnitten und mit einer Analysenwaage gewogen.



Abbildung 1:

Albino-Meerschweinchen mit Beckengips in Lorenzstellung.

In der Genitalregion wurde der Gips ausgespart, um die Tiere besser sauberhalten zu können. Mit diesem Gips konnten sie gut im Käfig "herumrobber".



Abbildung 2:

Röntgenaufnahme des Meerschweinchens von Abb. 1.
Die Lorenzstellung der unteren Extremitäten ist
deutlich erkennbar.



Abbildung 3:

Die im Beckengips ruhiggestellten Meerschweinchen stellen in Bezug auf Sauberhaltung und Pflege besondere Anforderungen. Aus diesem Grunde wurden Käfige aus Kunststoff angefertigt. Die Seitenwände und der Deckel sind abnehmbar. Die Exkremente konnten durch einen Rost leicht in einen unter den Käfig gestellten Behälter fallen. - Die Flasche mit dem im Winkel von 135° gebogenen Glasröhrchen diente den Tieren zur Flüssigkeitsaufnahme. Auf der Abbildung sieht man ein Meerschweinchen, das aus einem Napf Trockenfutter frißt.



Abbildung 4:

Mit dem Sägemikrotom nach WAGNER (Jung AG, Heidelberg) wurden in mittlerer Höhe des Femurs von Meer-schweinchen unentkalkte Knochenschnitte von $150\mu\text{m}$ bis $200\mu\text{m}$ hergestellt.



Abbildung 5:

Die Flächen der Anbauzonen der einzelnen wachsenden Osteone wurden mit der Mikroskopkamera "Orthomat", unter Benutzung des Mikroskopes "Ortholux" mit Fluoreszenzeinrichtung von Leitz/Wetzlar photographiert.

Start- und Sektionsgewichte von Kontroll- und Versuchstieren (Wachstumsalter).

Jugendliche Kontrolltiere:

Tiernummern	Startgewichte in g	Sektionsgewichte in g
1	170	257
2	172	256
3	184	296
4	188	297
5	195	347
6	195	313
7	210	356
8	225	392
9	244	324
10	250	409
Mittelwert	203	325
	$S \pm 28,2$	$S \pm 51,8$

Jugendliche Versuchstiere:

Tiernummern	Startgewichte in g	Sektionsgewichte in g
11	205	200
12	212	233
13	214	205
14	220	195
15	230	215
16	231	220
17	231	223
18	255	250
19	260	260
20	266	274
Mittelwert	232	227
	$S \pm 21,2$	$S \pm 26,5$

Tabelle 1:

Jugendliche Albino-Meerschweinchen vom Stamm Pirbright white, Startgewicht zwischen 170 g und 266 g. Es sind Tiere vor der Pubertät. Sie waren zu Anfang des Versuchs zwischen 30 und 60 Tage alt.

Start- und Sektionsgewichte von Kontroll- und Versuchstieren (ausgewachsene Tiere).

Ausgewachsene Kontrolltiere:

Tiernummern	Startgewichte in g	Sektionsgewichte in g
21	400	515
22	408	420
23	440	510
24	450	540
25	480	592
26	500	530
27	510	615
28	529	642
29	542	654
30	553	615
Mittelwert	481	563
	$S \pm 54,7$	$S \pm 73,0$

Ausgewachsene Versuchstiere:

Tiernummern	Startgewichte in g	Sektionsgewichte in g
31	438	325
32	439	360
33	449	315
34	470	335
35	490	439
36	507	360
37	518	450
38	543	410
39	562	385
40	571	515
Mittelwert	499	389
	$S \pm 49,7$	$S \pm 63,9$

Tabelle 2:

Ausgewachsene Albino-Meerschweinchen vom Stamme Pirbright white; Startgewicht zwischen 400 g und 571 g, Alter zwischen 130 und 300 Tagen.

B Meßmethoden

Um den Umbau des Knochens quantitativ beurteilen und mit Normwerten vergleichen zu können, haben FROST und SCHENK einige Begriffe eingeführt, die hier zum Teil etwas modifiziert wiedergegeben werden:

a) Osteonstatistik

Nach dem Auszählen sämtlicher Osteone wird der prozentuale Anteil von anbauenden, abbauenden und ruhenden Osteonen berechnet. Die Osteonstatistik gibt Auskunft über die Aktivität der inneren Umbauvorgänge und die Relation zwischen An- und Abbau.

Neben der Tetracyclinmarkierung wird der Unterschied zwischen den drei Osteonarten durch Färbung mit basischem Fuchsin noch verstärkt, da Fuchsin - im Gegensatz zu Tetracyclin - eine gute Affinität zu untermineralisiertem Gewebe hat (Abb. 6). Bei Blaulichtanregung sind daher die anbauenden Osteone, die sowohl kleine als auch große Lumen haben können, schwach rot gefärbt und von zwei gelben Säumen umgeben, da wir zweimal Tetracyclin im Abstand von 10 Tagen appliziert haben (Abb. 8).

Die abbauenden Osteone haben ein großes, ausgefranztes Lumen, dessen Umgebung stark rot gefärbt ist und rote, in das umliegende Gewebe führende Kanäle aufweist, die den Osteozytenausläufern entsprechen (Abb. 7).

Die ruhenden Osteone haben ein kleines, glatt begrenztes Lumen, dessen Umgebung etwas rot gefärbt ist und eventuell einen schwachen gelben Saum aufweist.

b) Osteoidsaumindex

Es wird die Zahl der anbauenden Osteone pro mm^2 Corticalis bestimmt. Damit läßt sich quantitativ die Intensität des Haver'schen Umbaus beurteilen.

Um die Fläche der Corticalis zu bestimmen, wurde ein Okular mit 10-facher Vergrößerung und rechteckiger Bildbegrenzung benutzt und ausgezählt, wie oft dieses Rechteck mit der Fläche der Corticalis zur Deckung gebracht werden konnte. Das Objektiv hatte 25-fache Vergrößerung. Mit Hilfe eines Objekt-Mikrometers (Leitz) wurde nun bestimmt, welcher Fläche das Rechteck im Okular auf dem Objekt entspricht. Der Bildbegrenzung im Okular entsprach bei einer Länge von 0,34 mm und einer Breite von 0,233 mm der reale Flächeninhalt von $0,07582 \text{ mm}^2$ auf dem Objekt. Die Anzahl der Rechtecke, die bei einem einzelnen Schnitt ausgezählt wurden, multipliziert mit $0,07582 \text{ mm}^2$, ergaben jeweils die Fläche der Corticalis.

c) Durchschnittliche jährliche Anbaurate

Durch die Ermittlung der Anbaufläche der einzelnen wachsenden Osteone pro Jahr läßt sich das pro Jahr umgesetzte Knochenvolumen feststellen, falls der Anbau gleich dem Abbau ist.

Um die Fläche zwischen den durch Tetracyclinmarkierung

entstandenen gelben Linien zu bestimmen - nämlich die Fläche, die innerhalb 10 Tagen angebaut wurde -, haben wir die Knochenschliffe mit der Mikroskopkamera "Orthomat" und dem Mikroskop "Ortholux" von Leitz/Wetzlar bei 25-facher Vergrößerung des Objektivs photographiert. Wir benutzten den Agfa-Film KB 14 DIN, stellten jedoch die Mikroskopkamera auf 18 DIN ein. Es hat sich gezeigt, dass sich die stark unterbelichteten Bilder besser auf dem Papier zum Abzeichnen projizieren lassen. Die Bilder waren dadurch auf dem Papier lichtstärker, und wenn die gelben Linien etwas dicker waren, wurde nur der mittlere, stärkste Anteil als dünne Linie auf dem Papier sichtbar (Scanning-Methode).

Außer den einzelnen wachsenden Osteonen wurde auch das schon erwähnte Objekt-Mikrometer photographiert und danach wie die wachsenden Osteone projiziert und als Quadrat abgezeichnet. Dieses Quadrat entsprach bei den Seitenlängen von 0,1 mm einer Fläche von $0,01 \text{ mm}^2$ auf dem Knochenquerschnitt.

Als Papier verwendeten wir Filterpapier gleicher Dicke. Das stellten wir dadurch fest, in dem die einzelnen Bögen, die alle die gleiche Größe hatten, gewogen wurden. Sie waren auch im Gewicht gleich.

Anstatt zu planimetrieren, wurden alle entstandenen "deformierten" Kreisringe und das oben erwähnte Rechteck ausgeschnitten und mit einer Analysenwaage in einem Arbeitsgang genau gewogen. Die ausgeschnittenen

Ringe wurden vorher zusammen mit wasserentziehenden Mitteln - bei Cebion in der Verschlusskappe - unter relativem Luftabschluß gelagert.

Das Rechteck, welches wir als Bezugsfläche benutzten, wog 782 mg. Es entsprachen also 782 mg einer Fläche von $0,01 \text{ mm}^2$; durch Dreisatz konnten wir damit die Fläche der Kreisringe - das ist die Anbaufläche der wachsenden Osteone - bestimmen.

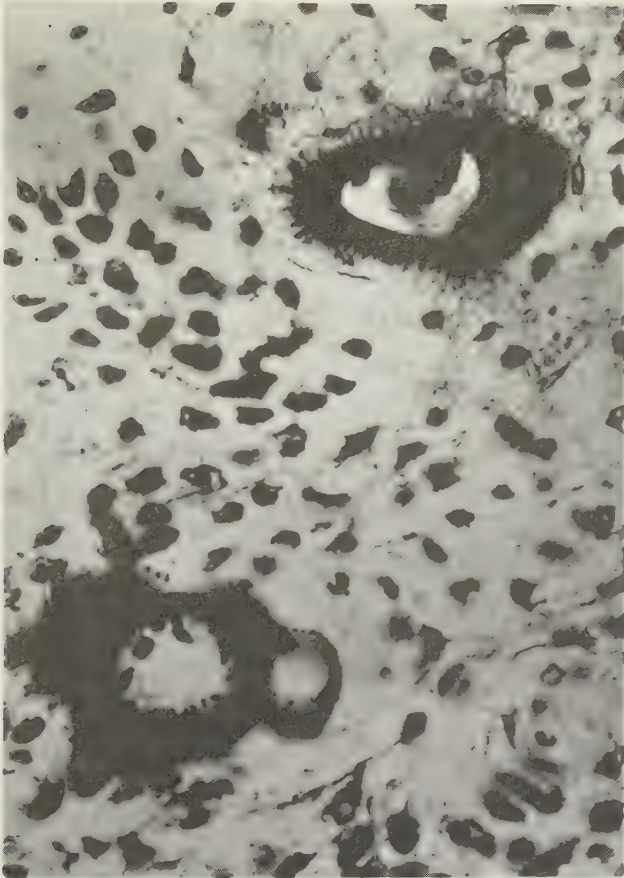


Abbildung 6:

Teil eines unentkalkten $20\mu\text{m}$ dicken Sugequerschnittes vom Meerschweinchenfemur in Diaphysenmitte (Fuchsinfrbung). Maßstab 1 : 500.

Die Aufnahme zeigt rechts oben ein anbauendes Osteon und links unten ein abbauendes mit einem großen ausgefranzten Lumen, dessen Umgebung stark angefrbt ist (s. auch Abb. 7). In dem Abbaukanal finden sich Osteozyten, die vermutlich hier die Aufgabe von Osteoklasten haben.

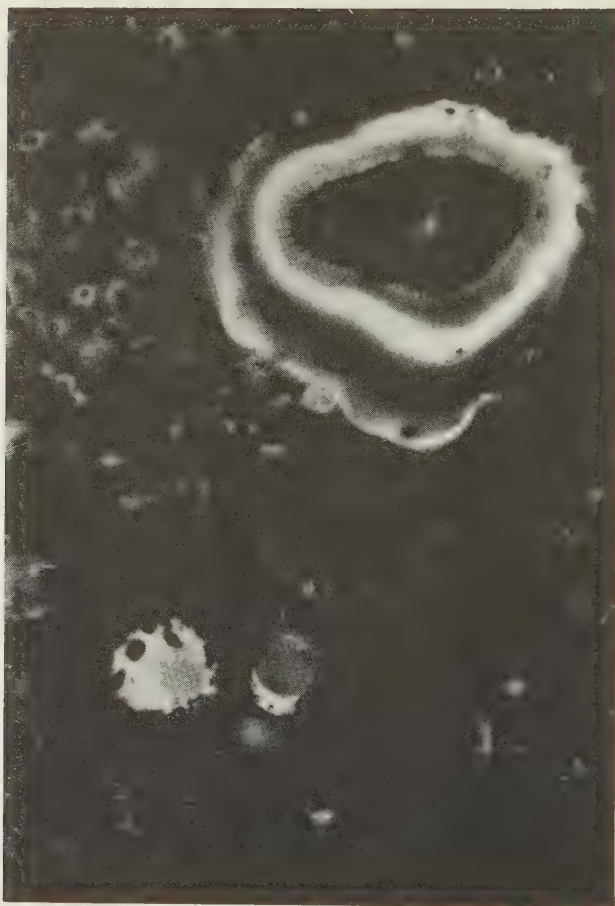


Abbildung 7:

Fluoreszenzaufnahme von Abbildung 6. Gleicher Abbildungsmaßstab. Oben rechts typischer Anbaukanal mit Doppelmarkierung. Unten links Abbaukanal neben einem ruhenden Osteon.



Abbildung 8:

Fluoreszenzaufnahme eines anbauenden Osteons mit Doppelmarkierung. Die zwischen den 2 äußeren hellen Linien liegende Knochenfläche wurde während den Markierungen am 1. und 10. Tag gebildet.

Im Anbaukanal finden sich langgestreckte, spindelförmige Zellen, die Osteoblastenfunktion besitzen.

Maßstab 1 : 500.

III ERGEBNISSE

Bei unseren Versuchen wurden 20 sehr junge Meerschweinchen und 20 Meerschweinchen nach der Pubertät verwendet. Diese beiden Gruppen wurden jeweils in 10 Kontroll- und 10 Versuchstiere unterteilt.

Aus der Gliederung des Kapitels "Meßmethoden" in Osteonstatistik, Osteoidsaumindex und Durchschnittliche jährliche Anbaurrate, ergibt sich für das Kapitel "Ergebnisse" die gleiche Gruppierung:

A Osteonstatistik

Der Mittelwert der anbauenden Osteone bei jugendlichen Kontrolltieren lag bei 9,77 %, bezogen auf die Gesamtzahl der Osteone, der abbauenden bei 6,11 % und der ruhenden bei 84,12 %. Die Streubreite war bis auf wenige Ausnahmen gering.

Bei den jugendlichen Versuchstieren waren die entsprechenden Werte 4,05 % anbauende, 11,62 % abbauende und 83,88 % ruhende Osteone. Die Gesamtzahl der Osteone änderte sich von Kontroll- zu Versuchstieren im Mittel nur von 239 auf 222 Osteone.

Die prozentuale Verteilung der anbauenden Osteone von ausgewachsenen Kontroll- zu ausgewachsenen Versuchstieren, änderte sich von 5,6 % auf 4,19 %; der abbauenden Osteone von 5,75 % auf 6,94 %; der ruhenden Osteone von 88,6 % auf 88,8 %; und die Gesamtzahl der Osteone von 341 auf 259. Diese Mittelwerte wurden in einer graphischen Darstellung noch einmal zusammengefaßt (Abb. 9a und 9b).

A Osteonstatistik

Jugendliche Kontrolltiere:

Tiernr.	Anbauende Osteone	Abbauende Osteone	Ruhende Osteone	Osteone Gesamt
1	20 - 7,81 %	17 - 6,64 %	219 - 85,55 %	256
2	11 - 5,21 %	10 - 4,73 %	190 - 90,06 %	211
3	25 - 11,90 %	17 - 8,09 %	168 - 80,01 %	210
4	18 - 6,00 %	12 - 4,00 %	270 - 90,00 %	300
5	21 - 8,53 %	14 - 5,69 %	211 - 85,78 %	246
6	20 - 9,38 %	15 - 7,04 %	178 - 83,58 %	213
7	37 - 14,91 %	17 - 6,85 %	194 - 78,24 %	248
8	33 - 12,54 %	25 - 9,50 %	205 - 77,96 %	263
9	23 - 11,33 %	15 - 7,38 %	165 - 81,29 %	203
10	25 - 10,12 %	19 - 7,69 %	203 - 82,19 %	247
Mittel- wert	23,3 - 9,77 %	16,1 - 6,11 %	200,3 - 84,12 %	239
	S $\pm$ 7,41	S $\pm$ 4,09	S $\pm$ 30,34	

Jugendliche Versuchstiere:

Tiernr.	Anbauende Osteone	Abbauende Osteone	Ruhende Osteone	Osteone Gesamt
11	10 - 3,84 %	17 - 6,53 %	233 - 89,6 %	260
12	11 - 4,88 %	19 - 8,44 %	195 - 86,7 %	225
13	9 - 3,75 %	24 - 10,00 %	207 - 86,2 %	240
14	15 - 9,61 %	23 - 14,74 %	188 - 75,6 %	156
15	13 - 7,42 %	30 - 17,14 %	132 - 75,4 %	175
16	2 - 0,96 %	22 - 10,57 %	184 - 88,4 %	208
17	6 - 2,77 %	25 - 11,57 %	185 - 85,6 %	216
18	12 - 3,72 %	23 - 7,14 %	287 - 89,1 %	322
19	3 - 1,57 %	30 - 15,70 %	157 - 82,6 %	190
20	15 - 6,55 %	33 - 14,41 %	181 - 80,3 %	229
Mittel- wert	9,6 - 4,50 %	24,6 - 11,62 %	194,9 - 83,88 %	222
	S $\pm$ 4,62	S $\pm$ 5,06	S $\pm$ 42,07 %	

Tabelle 3:

Neben der Anzahl der anbauenden, abbauenden und ruhenden Osteone wurden besonders auch ihre prozentualen Verhältnisse zur Gesamtzahl der Osteone berücksichtigt. Die Messungen wurden an Femurquerschnitten von Albino-Meerschweinchen durchgeführt.

A Osteonstatistik

Ausgewachsene Kontrolltiere:

Tiernr.	Anbauende Osteone	Abbauende Osteone	Ruhende Osteone	Osteone Gesamt
21	12 - 3,68 %	15 - 4,60 %	299 - 91,7 %	326
22	11 - 3,47 %	14 - 4,41 %	292 - 92,1 %	317
23	16 - 5,09 %	15 - 4,77 %	283 - 90,1 %	314
24	28 - 9,92 %	27 - 9,57 %	227 - 80,4 %	282
25	30 - 7,81 %	26 - 6,77 %	328 - 85,4 %	384
26	25 - 7,02 %	26 - 7,30 %	305 - 85,6 %	356
27	21 - 5,89 %	20 - 5,61 %	315 - 88,4 %	356
28	16 - 4,66 %	16 - 4,66 %	311 - 90,6 %	343
29	10 - 3,02 %	16 - 4,83 %	305 - 92,1 %	331
30	22 - 5,50 %	20 - 5,00 %	358 - 89,5 %	400
Mittel- wert	19,1- 5,60 % S $\pm$ 7,17	18,5- 5,75 % S $\pm$ 5,13	302,3- 88,6 % S $\pm$ 33,62	341

Ausgewachsene Versuchstiere:

Tiernr.	Anbauende Osteone	Abbauende Osteone	Ruhende Osteone	Osteone Gesamt
31	8 - 4,23 %	14 - 7,40 %	167 - 88,3 %	189
32	2 - 0,65 %	25 - 8,22 %	277 - 91,1 %	304
33	13- 5,24 %	16 - 6,45 %	219 - 88,3 %	248
34	6 - 1,97 %	12 - 3,93 %	287 - 94,0 %	305
35	21- 6,34 %	18 - 5,43 %	292 - 88,2 %	331
36	12- 5,90 %	15 - 7,42 %	175 - 86,6 %	202
37	10- 3,64 %	14 - 1,50 %	250 - 91,2 %	274
38	4 - 1,16 %	20 - 5,84 %	318 - 92,9 %	342
39	20- 11,50 %	20 - 11,50 %	133 - 76,8 %	173
40	3 - 1,35 %	18 - 8,14 %	200 - 90,0 %	221
Mittel- wert	9,9- 4,19 % S $\pm$ 6,69	17,2- 6,94 % S $\pm$ 3,82	231,8- 88,8 % S $\pm$ 62,21	259

Tabelle 4:

Neben der Anzahl der anbauenden, abbauenden und ruhenden Osteone wurden besonders auch ihre prozentualen Verhältnisse zur Gesamtzahl der Osteone berücksichtigt. Die Messungen wurden an Femurquerschnitten von Albino-Meerschweinchen vom Stamme Pirbright white durchgeführt.

A Osteonstatistik

1. Anbauende Osteone

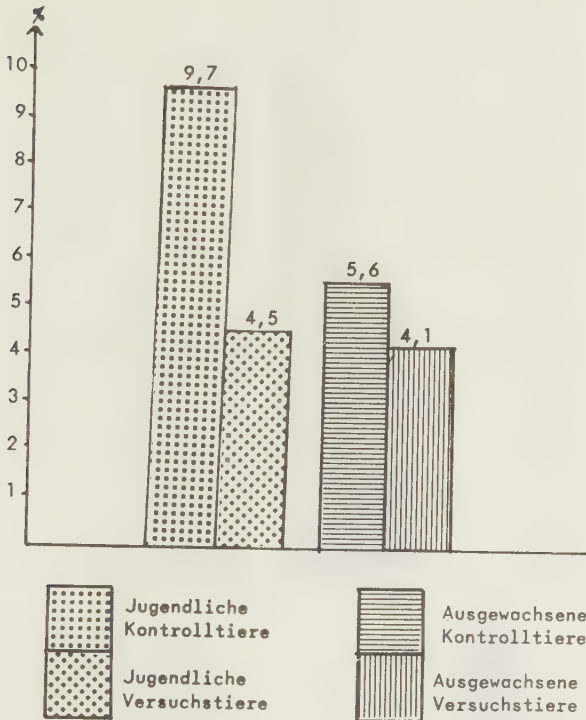


Abbildung 9a:

Die Abbildung zeigt eine graphische Gegenüberstellung von Kontroll- zu Versuchstieren und von jugendlichen zu ausgewachsenen Tieren. Die Differenz zwischen der ersten und zweiten und zwischen der dritten und vierten Säule zeigt die verschiedene Einwirkung der Ruhigstellung beim jugendlichen und beim ausgewachsenen Meerschweinchen. Die Höhe der Säulen stellt die prozentualen Mittelwerte in Bezug auf die Gesamtzahl der Osteone dar.

A Osteonstatistik

2. Abbauende Osteone

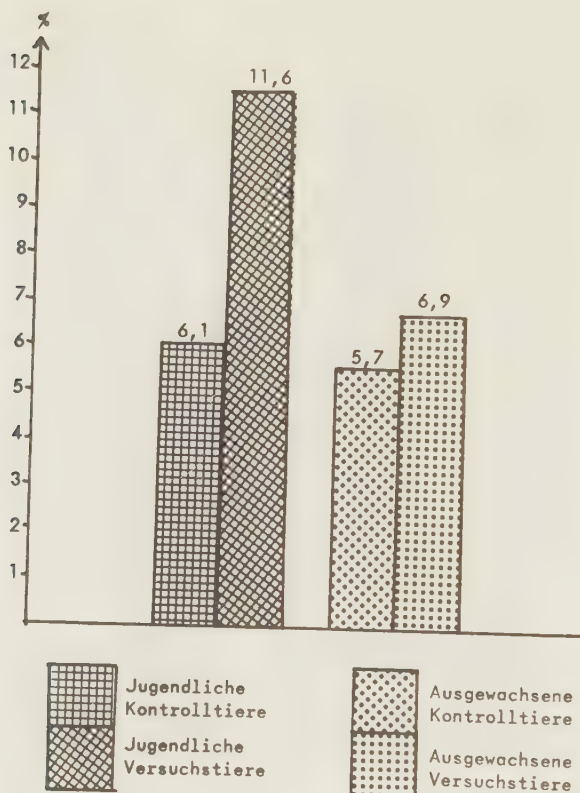


Abbildung 9b:

Siehe Abbildung 9a.

Die ruhenden Osteone wurden nicht in die graphische Darstellung aufgenommen, da sie mit Werten zwischen 83 % und 88 % praktisch bei allen Tieren konstant blieben.

B Osteoidsaumindex

Von 56,1 Osteonen pro mm^2 fielen bei jugendlichen Kontrolltieren 5,3 auf die anbauenden Osteone; bei jugendlichen Versuchstieren fielen von 68,9 Osteonen pro mm^2 nur 3,07 auf die anbauenden.

Die entsprechenden Werte bei den ausgewachsenen Kontrolltieren waren 49,7 Osteone pro mm^2 zu 2,84 anbauende Osteone pro mm^2 , bei den ausgewachsenen Versuchstieren 44,1 Osteone pro mm^2 zu 1,79 Osteone pro mm^2 . (Tab. 5 und 6).

Diese Ergebnisse wurden durch die graphische Darstellung Nr. 10 ausgedrückt.

B Osteoidsaumindex

Jugendliche Kontrolltiere:

Tiernr.	Messfelder	Corticalisfl. mm ²	Osteone/mm ² Gesamt	Anbauende Osteone/mm ²
1	54	4,16	61,5	4,80
2	45	3,39	62,2	3,24
3	58	4,82	47,4	5,64
4	53	4,02	74,6	4,47
5	50	3,82	64,4	5,49
6	57	4,29	49,7	4,66
7	64	4,82	51,5	7,67
8	62	4,68	56,2	7,05
9	61	4,61	44,0	4,98
10	66	5,01	49,3	4,99
Mittelwert	57	4,32	56,1	5,29 $S_{\pm} 1,27$

Jugendliche Versuchstiere:

Tiernr.	Messfelder	Corticalisfl. mm ²	Osteone/mm ² Gesamt	Anbauende Osteone/mm ²
11	34	2,56	101,6	3,90
12	42	3,17	71,0	3,47
13	41	3,08	76,7	2,87
14	32	2,43	64,2	6,17
15	41	3,08	56,8	4,22
16	41	3,08	67,5	0,64
17	46	3,53	61,2	1,69
18	60	4,52	71,2	2,65
19	47	3,59	52,9	0,83
20	45	3,48	65,8	4,31
Mittelwert	43	3,21	68,9	3,07 $S_{\pm} 1,71$

Tabelle 5:

Das Meßfeld im Okular hatte die Größe von 0,07582 mm². Die Spalte Meßfelder gibt an, wie oft dieses Feld mit der Fläche Corticalis bei Femurquerschnitten von Meerschweinchen zur Deckung gebracht werden konnte. Das Produkt von Anzahl der Meßfelder und Flächeninhalt des Meßfeldes ist in der nächsten Spalte unter Corticalisfläche in mm² aufgezählt. Eine weitere Spalte bezeichnet die Gesamtzahl der Osteone pro mm² Corticalisfläche. Die letzte Spalte gibt den eigentlichen Osteoidsaumindex an, sie bezeichnet die anbauenden Osteone pro mm² der Corticalisfläche.

B Osteoidsaumindex

Ausgewachsene Kontrolltiere:

Tiernr.	Messfelder	Corticisfl. mm ²	Osteone/mm ² Gesamt	Anbauende Osteone/mm ²
21	79	5,98	45,5	2,00
22	81	6,13	51,7	1,79
23	78	5,91	53,1	2,70
24	72	5,45	51,7	5,13
25	99	7,50	51,2	4,00
26	106	8,03	44,3	3,11
27	100	7,58	46,9	2,77
28	104	7,88	43,5	2,03
29	95	7,20	45,9	1,38
30	83	6,29	63,5	3,49
Mittelwert	90	6,79	49,7	2,84 $S_{\pm} 1,14$

Ausgewachsene Versuchstiere:

Tiernr.	Messfelder	Corticisfl. mm ²	Osteone/mm ² Gesamt	Anbauende Osteone/mm ²
31	70	5,30	35,6	1,50
32	86	6,52	46,6	0,30
33	68	5,15	48,1	2,52
34	99	7,50	40,6	0,80
35	88	6,67	49,6	3,14
36	54	4,09	49,3	2,93
37	84	6,36	43,0	1,57
38	102	7,73	44,2	0,51
39	63	4,77	36,2	4,19
40	75	5,68	38,9	0,52
Mittelwert	79	5,97	44,1	1,79 $S_{\pm} 1,33$

Tabelle 6:

Siehe Tabelle 5.

B Osteoidsaumindex

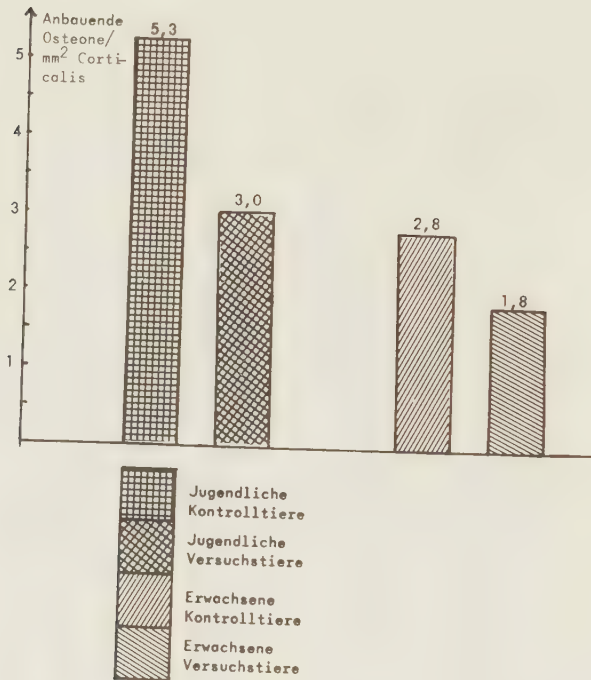


Abbildung 10:

Osteoidsaumindex ist die Zahl der anbauenden Osteone pro mm² Corticalis. Die Höhe der Säulen stellt jeweils den Mittelwert von jugendlichen und ausgewachsenen Versuchs- und Kontrolltieren dar. Die Differenz der Höhe zwischen der ersten und zweiten und zwischen der dritten und vierten Säule drückt die Veränderungen am Knochen aus, die durch die zehntägige Ruhigstellung entstanden sind.

C Durchschnittliche jährliche Anbaurrate

Die jährliche Anbaufläche eines Osteons von jugendlichen Kontrolltieren betrug im Mittel $10,89 \text{ mm}^2$, von jugendlichen Versuchstieren $3,45 \text{ mm}^2$, von ausgewachsenen Kontrolltieren $9,11 \text{ mm}^2$ und von ausgewachsenen Versuchstieren $4,22 \text{ mm}^2$ (Tab. 7 und 8).

Bei jugendlichen Kontrolltieren wurde dieses Ergebnis als Mittelwert von 56 anbauenden Osteonen berechnet, bei den jugendlichen Versuchstieren aus 39 Osteonen; bei den ausgewachsenen Kontrolltieren aus 62 Osteonen; bei den ausgewachsenen Versuchstieren aus 59 Osteonen.

Diese Ergebnisse wurden durch die graphische Darstellung Nr. 11 ausgedrückt.

C Durchschnittliche jährliche Anbaurrate

Jugendliche Kontrolltiere:

Tiernr.	Anbaufäche/10 Tg. in entspr.Gew.- mg	Anbaufäche/10 Tg. in mm ² x 10 ⁻²	Anbauf./Jahr in mm ²
1	263,4	33,7	12,29
2	234,3	29,9	10,93
3	381,0	48,8	17,78
4	215,8	27,6	10,06
5	207,1	26,5	9,66
6	217,7	27,8	10,16
7	195,0	25,0	9,10
8	200,0	25,6	9,33
9	147,8	18,9	6,90
10	350,8	44,9	16,37
Mittelwert	241,2 $\pm$ 72,27	29,9	10,89

Jugendliche Versuchstiere:

Tiernr.	Anbaufäche/10 Tg. in entspr.Gew.- mg	Anbaufäche/10 Tg. in mm ² x 10 ⁻²	Anbauf./Jahr in mm ²
11	79,3	10,1	3,70
12	77,5	9,9	3,62
13	56,6	7,2	2,64
14	61,6	7,9	2,87
15	82,4	10,5	3,84
16	160,0	20,4	7,46
17	91,6	11,7	4,27
18	62,5	8,0	2,92
19	105,0	13,4	4,90
20	35,0	4,5	1,63
Mittelwert	81,1 $\pm$ 33,95	9,4	3,45

Tabelle 7:

Die Spalte, die mit "Anbaufäche/10 Tage in entsprechendem Gewicht - mg" bezeichnet wurde, gibt jeweils den Durchschnittswert aller gewogenen Anbaufächen der Osteone in einem Knochenschnitt. In der letzten Spalte werden die Anbaufächen, die pro 10 Tage ermittelt wurden, auf ein Jahr umgerechnet. Diese Anbaufäche pro Jahr wird auch als "durchschnittliche jährliche Anbaurrate" bezeichnet.

C Durchschnittliche jährliche Anbaurate

Ausgewachsene Kontrolltiere:

Tiernr.	Anbaufläche/10 Tg. in entspr.Gew.-mg	Anbaufläche/10 Tg. in mm ² · 10 ⁻²	Anbaufl./Jahr in mm ²
21	171,66	21,9	8,01
22	208,20	26,6	9,71
23	250,75	32,1	11,70
24	154,62	19,7	7,21
25	156,85	20,0	7,32
26	225,00	28,7	10,50
27	191,16	24,4	8,92
28	233,60	29,8	10,90
29	135,00	17,2	6,29
30	213,20	27,2	9,94
Mittelwert	194,00 $S \pm 38,35$	24,9	9,11

Ausgewachsene Versuchstiere:

Tiernr.	Anbaufläche/10 Tg. in entspr.Gew.- mg	Anbaufläche/10 Tg. in mm ² · 10 ⁻²	Anbaufl./Jahr in mm ²
31	118,00	15,1	5,50
32	67,50	8,6	3,14
33	134,62	17,2	6,28
34	108,40	13,9	5,05
35	83,75	10,7	3,90
36	87,91	11,2	4,10
37	84,66	10,8	3,94
38	76,00	9,7	3,54
39	85,72	10,9	4,00
40	84,00	10,7	3,92
Mittelwert	93,05 $S \pm 20,68$	11,5	4,22

Tabelle 8:

Siehe Tabelle 7.

C Durchschnittliche jährliche Anbaurate

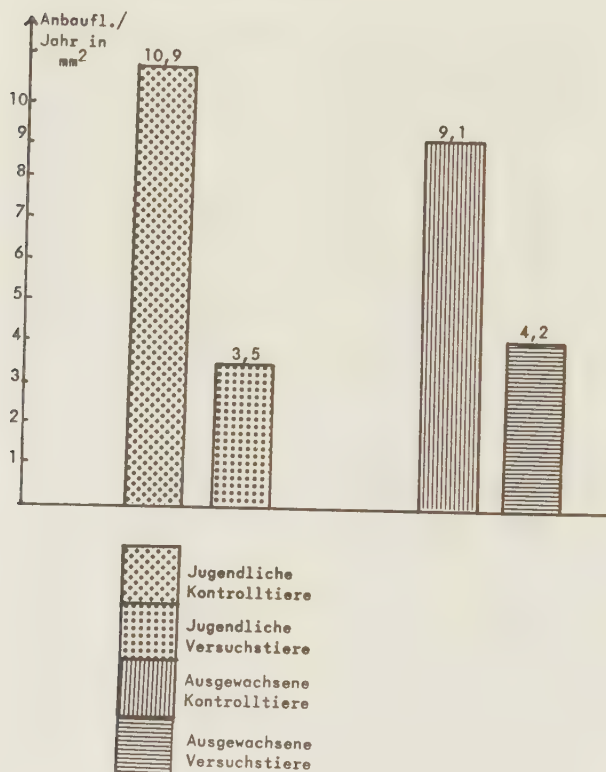


Abbildung 11:

Die "Durchschnittliche jährliche Anbaurate" bedeutet jeweils die Mittelwerte der Flächen, die in einem Jahr von einem Osteon angebaut werden. Die jugendlichen Versuchstiere entsprechen den Tiernummern 11 - 20, die jugendlichen Kontrolltiere 1 - 10; die ausgewachsenen Kontrolltiere den Nr. 21 - 30 und die ausgewachsenen Versuchstiere 31 - 40.

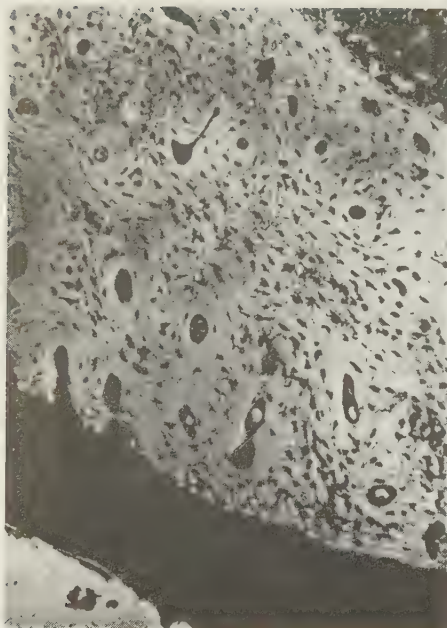


Abbildung 9:

Übersichtaufnahme eines 20 μm dicken Sägequerschnittes
vom Meerschweinchenfemur (ausgewachsene Kontrolltiere)
in Diaphysenmitte.

Maßstab 1 : 100.

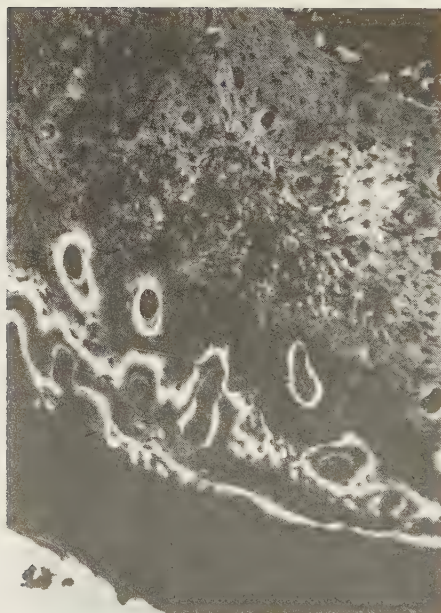


Abbildung 10:

Übersichtaufnahme eines $20\mu\text{m}$ dicken Sägequerschnittes vom Meerschweinchenfemur (ausgewachsene Kontrolltiere) in Diaphysenmitte.

Maßstab 1 : 100.

Im Gegensatz zu Abb. 9 wurde Abb. 10 bei Blaulichtbeleuchtung aufgenommen (s. auch Abb. 6 und 7).

IV DISKUSSION

A Methodische Fehler

Der menschliche Oberschenkelknochen unterscheidet sich durch die Zahl der Kanälchen pro Osteozyten nicht von demjenigen der Ratte und des Meerschweinchens (STÜNZI). Meerschweinchen sind als Versuchstiere besonders geeignet, da ihre Größe und Zutraulichkeit die Pflege erleichtern. Der geringe Nagetrieb verhindert, dass sich die Tiere gegenseitig den Beckengips abfressen. Außerdem sind Meerschweinchen fähig, bei Ruhigstellung der unteren Extremitäten. im Käfig herumzurobben.

Die Gewichtszunahme der Kontrolltiere war größer als die der Versuchstiere. Oft war bei den letzteren auch ein Gewichtsverlust zu bemerken. Das läßt sich zu einem Teil auf die Muskelatrophie zurückführen, zu einem anderen jedoch auf eine etwas verringerte Nahrungsaufnahme. Auf die Ergebnisse dürfte es sich jedoch nicht auswirken, da durch ein besonders für Meerschweinchen zusammengestelltes Trockenfutter - Altromin - und reichliche Vitamin-C-Zufuhr im Trinkwasser Mangelercheinungen, besonders durch zu wenig Calcium, ausgeschlossen werden können.

Die sehr geringe Menge von 10 mg Reverin® pro Gramm Körpergewicht der Tiere, die im Abstand von 10 Tagen intramuskulär gespritzt wurde, hat keinen Einfluß auf das Knochenwachstum.

Um entscheidende Artefakte wie Schrumpfungen, sonstige Formveränderungen oder ungleichmäßige Färbung zu vermeiden, wurden unentkalkte Knochenschliffe hergestellt. Dabei hat sich das Sägemikrotom nach WAGNER gut bewährt. Durch Verlängerung der Einbettungs- und Polymerisationszeit konnten Ribbildungen weitgehend vermieden werden.

Das Differenzieren zwischen wachsenden, abbauenden und ruhenden Osteonen bereitete zunächst bei den jugendlichen Tieren etwas Schwierigkeiten, da zwischen den einzelnen Osteonzuständen alle Arten von Übergängen möglich sind. Ein Osteon kann an der einen Seite abbauen, während es an der anderen Seite anbaut. Nur die eindeutig an- und abbauenden Osteone wurden den jeweiligen Gruppen, die Grenzfälle den ruhenden Osteonen, zugeordnet. Dies verhinderte Verfälschungen der Ergebnisse.

B Osteonstatistik

Innerhalb von 10 Tagen verringerte sich durch Ruhigstellung der Anteil der anbauenden Osteone bei jugendlichen Tieren ungefähr um die Hälfte, während sich der Anteil der abbauenden Osteone verdoppelte.

Wie auch bei den ausgewachsenen Tieren, blieb die prozentuale Verteilung der ruhenden Osteone relativ konstant. Die anbauenden Osteone verringerten sich bei den ausgewachsenen Tieren nur von 5,6 % auf 4,1 %, während die Zahl der abbauenden Osteone von 5,7 % auf 6,9 % anstieg. Diese Ergebnisse der Osteonstatistik zeigen die Altersabhängig-

keit der Schädigung, die bei gleicher Ruhigstellung vor der Pubertät entschieden stärker ausgeprägt ist als danach. Außerdem erwies sich als Ausdruck der Inaktivitätsosteoporose sowohl ein gesteigerter Knochenabbau als auch ein verringerter Knochenanbau - wobei einer dieser beiden Faktoren schon genügen würde.

C Osteoidsaumindex

Die Ergebnisse des Osteoidsaumindex änderten sich entsprechend von 5,3 auf 3,0 anbauende Osteone pro mm Corticalis bei jugendlichen Tieren und von 2,8 auf 1,8 anbauende Osteone pro mm Corticalis bei ausgewachsenen Tieren.

Die Anzahl der anbauenden Osteone pro mm Corticalis lag also schon bei den ausgewachsenen nicht geschädigten Tieren niedriger als bei jugendlichen geschädigten Tieren. Dadurch wird deutlich, dass der Begriff der Osteoporose nicht statisch durch absolute Werte, sondern nur durch Relationen zu den jeweiligen Normalwerten definiert werden kann.

D Durchschnittliche jährliche Anbauräte

Nicht nur die Anzahl der anbauenden Osteone verringerte sich durch die Ruhigstellung, sondern auch die Intensität ihres Wachstums. Es wurden insgesamt 216 anbauende Osteone untersucht, wobei sich von Kontroll- zu Versuchstieren eine durchschnittliche Anbaufläche der einzelnen Osteone von $10,9 \text{ mm}^2$ zu $3,5 \text{ mm}^2$ bei jugendlichen Tieren

und eine Fläche von 9, 1 mm² zu 4,2 mm² bei ausgewachsenen Tieren gegenüberstand.

Die Osteoporose drückt sich also nicht nur in einer Zunahme der abbauenden und in einer Abnahme der anbauenden Osteone aus, sondern auch in einer durchschnittlich verringerten Leistung jedes anbauenden Osteons.

E Schlußfolgerungen

Die Definition von Osteoporose: Verlust von Knochen- gewebe zugunsten des Markraums bei äußeren unveränderten Dimensionen, oder Verringerung der Hartschubstanz auf 60 %, muß durch eine dynamische ersetzt werden. Anzahl und Qualität der einzelnen Osteonarten müssen mit Untersuchungen eines früheren Zeitpunktes oder den jeweiligen Normalwerten verglichen werden. Diese Veränderungen lassen sich durch die Tetracyclinmarkierung mit nachfolgender Biopsie durch Osteonstatistik, Osteoidsaumin- dex und durchschnittliche jährliche Anbau- rate ermitteln.

Die Tierversuche haben weiterhin gezeigt, dass bei gleichen Versuchsbedingungen jugendliche Tiere mit einer wesentlich intensiveren Osteoporose auf Ruhigstellung reagieren als ausgewachsene.

Um grobe Vergleiche mit menschlichen Verhältnissen zu erhalten, gibt folgende Tabelle Auskunft:

Mensch	Meerschweinchen	
2 Jahre	1 Tag	75 g Körpergew.
4 "	20 Tage	150 g "
6 "	56 "	250 g "
8 "	84 "	350 g "
12 "	140 "	450 g "
20 "	356 "	800 g "

Überträgt man die vorliegenden Ergebnisse auf die Gipsbehandlung von Menschen, so muß man bedenken, dass so stürmische Abbauerscheinungen wie beim Meerschweinchen nicht in diesen kurzen Zeitabständen auftreten.

Als klinische Schlußfolgerung bestätigen sich die 8 Punkte, die EICHLER (1960) zusammenstellte. Um eine Inaktivitätsosteoporose zu vermeiden, kommt es entscheidend bei der Festlegung einer Dauerinaktivierung auf das Alter des Patienten an.

Die 8 Punkte von EICHLER lauten:

1. Gipsverband nur bei strenger Indikation
2. Bei längerer Fixierung in Gips ist zu berücksichtigen, dass im Kleinkindalter innerhalb weniger Monate Komplikationen durch Inaktivitätsosteoporosen entstehen können. Klumpfüße mit erheblichen Kontrakturen sollen daher nicht länger als 6 Monate mit Redressionsgips behandelt werden.

In vielen Fällen sind operative Maßnahmen auf die Dauer sicher schonender als konservative Behandlung. Doppelseitige Hüftluxationen, die einer konservativen

Behandlung nicht zugänglich sind, sollten entweder in einer Sitzung auf beiden Seiten blutig korrigiert werden, oder die zweite Seite erst nach Unterbrechung der Immobilisation operiert werden.

3. Müssen Extremitäten über längere Zeit immobilisiert werden, ist immer zu überlegen, ob nicht zumindest zeitweise Ruhigstellung im Apparat ausreicht.
4. Für die operative Wiederherstellung ausgedehnter kindlicher Mißbildungen ist zunächst das funktionelle Ergebnis entscheidend. Können Kinder einmal gehen und greifen, bildet sich durch Belastung und Bewegung genügend Knochensubstanz. Nach einigen Jahren ist die Osteoporose kaum noch nachweisbar. Dann können kosmetische Eingriffe folgen.
5. In den ersten Tagen nach Abnahme des Gipsverbandes besteht eine erhöhte Bruchbereitschaft, passive Übungen sind auf jeden Fall kontraindiziert. Bei der Durchführung aktiver Übungen soll den Kindern nicht zu viel abverlangt werden. Schmerzen sind weitgehend zu vermeiden.
6. Belastungen dürfen nach längerer Immobilisation im Wachstumsalter erst dann vorgenommen werden, wenn aus der Röntgenaufnahme ersichtlich ist, dass die Epiphysen einer Belastung standhalten. Kinder, die das Laufen nach längerer Immobilisation verweigern, können atrophierte und noch nicht belastungsfähige Knochen haben.
7. Isometrische Spannungsübungen im Gipsverband reduzieren die Inaktivitätsosteoporose.

8. Nach ausgedehnten Lähmungen verhindert frühzeitiges Stehen, selbst im Beckengipsverband, stärkere Schäden am kindlichen Knochen.

V ZUSAMMENFASSUNG

Die Versuche wurden an unentkalkten Femurquerschnitten von 40 Albino-Meerschweinchen vom Stamme Pirbright white durchgeführt.

Mittels Osteonstatistik - prozentuale Zusammensetzung der drei Osteonarten -, Osteoidsaumindex - Zahl der anbauenden Osteone pro mm^2 Corticalis - und durchschnittlicher jährlicher Anbaurate - mittlere Anbaufläche eines wachsenden Osteons pro Jahr - wurde die Einwirkung einer 21-tägigen Ruhigstellung der unteren Extremitäten auf den Knochen bei jugendlichen und ausgewachsenen Tieren untersucht.

Um die Osteonarten unterscheiden und die Anbaufläche messen zu können, wurden die Tiere am 1. und 10. Tag mit Tetracyclin injiziert, welches sich am Ort der Knochenneubildung im Knochen einlagert und bei Blaulichtanregung gelbes Licht emittiert.

Sowohl durch die Osteonstatistik als auch durch den Osteoidsaumindex und die durchschnittliche jährliche Anbaurate, konnte quantitativ eine Inaktivitätsosteoporose nach Ruhigstellung eindeutig nachgewiesen werden.

Darüber hinaus wurde gezeigt, dass das Ausmaß der Osteoporose bei gleich langer Ruhigstellung bei jugendlichen Tieren vor der Pubertät entschieden größer ist als bei ausgewachsenen Tieren.

SUMMARY

The experiments were made on undecalcified femur cross-sections from 40 albino guinea pigs of the Pirbright white pedigree.

Through osteonstatistic - percent composition of the types of osteones -, index of osteoid margins - number of osteons pro mm^2 corticalis added - and the average yearly rate of increase - the added area of a growing osteone pro year - the result of resting the lower extremities for 21 days on the bones of young and adult animals were examined.

In order to differentiate between the types of bone and to be able to measure the increased area, the animals were given a Tetracycline injection on the first and tenth day, which imbeds itself in the site where the new bone is added on, and by shining blue light on it, yellow light is emitted.

Through the osteonstatistic, the index of osteoid margin and the average yearly rate of increase in the inactivity osteoporose after resting could be quantitatively clearly proved. Besides that it was shown, that the degree of the osteoporose by the same length of resting time by young animals before puberty is significantly greater than by adult animals.

VI ANHANG

Varianzanalysen

2-Faktorenpläne (p x q mit n Meßwiederholungen)

auf Olivetti programma 101 nach Programmen von
Dr. D. Beckmann gerechnet.
Winer, B.J., S. 213

Anmerkung: Die Prozentwerte der Osteonstatistik wurden
nach der Formel $\phi = 2 \arcsin \sqrt{x}$ transformiert, da
es sich um Proportionen handelt, bei denen eine
Binomialverteilung angenommen werden kann (vergl.
WINER, S. 221)

Für folgende vier Analysen gelten folgende Benennungen:

A = Kontroll- Versuchstiere

B = Jugendliche- Erwachsene Tiere

SS = Summe der Quadrate

df = Freiheitsgrad

MS = Mittlere Summe der Quadrate

F = F - Test

$$F_A = \frac{MS_A}{MS_{in}}$$

$$F_B = \frac{MS_B}{MS_{in}}$$

$$F_{AB} = \frac{MS_{AB}}{MS_{in}}$$

p = Signifikanz-Niveau

p < 0,05 (signifikant)

p < 0,01 (hochsignifikant)

Ergebnisse

A Osteonstatistik

1. Anbauende Osteone

Quelle	SS	df	MS	F	p
A	17,0303	1	17,0303	8,803918	0,01
B	4,1499	1	4,1499	2,145316	-
AB	1,5335	1	1,5335	-	-
in	69.6390	36	1,9374	-	-
Total	92,3527	39	-	-	-

Interpretation:

Die anbauenden Osteone haben sich von Kontroll- zu Versuchstieren (A) hochsignifikant verringert ($p < 0,01$). Diese Verringerung ist bei jugendlichen und ausgewachsenen Tieren nicht nachweisbar unterschiedlich (Interaktion, AB). Die letzte Aussage kann mit einer allzu großen Streuung zusammenhängen und mußte in weiteren Untersuchungen überprüft werden.

2. Abbauende Osteone

Quelle	SS	df	MS	F	p
A	11,2212	1	11,2212	11,023872	0,01
B	10,3898	1	10,3898	10,207093	0,01
AB	6,3743	1	6,3743	6,262206	0,05
in	36,6471	36	1,0179	-	-
Total	64,6324	39	-	-	-

Interpretation:

Die abbauenden Osteone zeigten von Kontroll- zu Versuchstieren (A) eine hochsignifikante Vermehrung ($p < 0,01$). Außerdem haben die ausgewachsenen Tiere (B) bedeutend mehr abbauende Osteone als die jugendlichen ($p < 0,01$). Weiter hat sich die Ruhigstellung in Bezug auf die abbauenden Osteone (AB) bei jugendlichen Tieren signifikant schädigender ausgewirkt als bei ausgewachsenen (Interaktion, $p < 0,05$).

B Osteoidsaumindex

Anbauende Osteone/min²

Quelle	SS	df	MS	F	p
A	22,667	1	22,667	13,977	0,01
B	34,894	1	34,894	18,289	0,01
AB	3,493	1	3,493	1,831	-
in	68,688	36	1,908	-	-
Total	133,741	39	-	-	-

Interpretation:

Pro Quadratmillimeter fanden sich hochsignifikant mehr anbauende Osteone bei den Kontrolltieren als bei den Versuchstieren (A). ($p < 0,01$). Auch von ausgewachsenen zu jugendlichen Tieren (B) waren die Osteone pro mm^2 hochsignifikant vermehrt ($p < 0,01$). Dieser Unterschied ließ sich ohne Bezug auf die Fläche statistisch nicht absichern (s. A, Punkt 1).

Nach dem Osteoidsaumindex verhalten sich jugendliche Kontrolltiere zu Versuchstieren (AB) statistisch nicht unterschiedlich von erwachsenen Kontroll- zu Versuchstieren (Interaktion), im Gegensatz zu ihrer Funktion (s. C).

C Durchschnittliche jährliche Anbaurrate

Anbaufläche/10 Tagen

Quelle	SS	df	MS	F	p
A	170 417,36	1	170 417,36	82,375	0,01
B	3 129,36	1	3,129,36	1,512	-
AB	8 759,23	1	8 759,23	4,234	0,05
in	74 476,11	36	2 068,78	-	-
Total	256 782,06	39	-	-	-

Interpretation:

Im Durchschnitt bauen die Kontrolltiere pro wachsendem Osteon entschieden mehr an als die Versuchstiere (A) ($p < 0,01$).

Zwischen jugendlichen und ausgewachsenen Tieren ist kein Unterschied nachweisbar (B). Jedoch zeigt es sich, dass die anbauenden Osteone der jugendlichen Tiere durch die Ruhigstellung in ihrer Funktion bedeutend mehr geschädigt werden als die der ausgewachsenen Tiere (AB) ($p < 0,05$).

VII LITERATURVERZEICHNIS

- Arnold, J.S. u. W.S.S. Jee: Embedding and sectioning undecalcified bone and its application to radioautography, Stain Technol., Geneva, N.Y. 29, 255 (1954)
- Arnold, J.S., D.H. Taysum u. W.S.S. Jee: Apparatures for bone sectioning, Stain Technol., Geneva, N.Y. 29, 55 (1954)
- Bartelheimer, H.: Die klinische Bedeutung der Knochenbiopsie, Verh. Dtsch. Ges. Path., 47. Tagg. G. Fischer, Stuttgart (1963), S. 129
- Belanger, L.F., J. Robichon, B.B. Migicovsky, D.H. Copp, J. Vincent: Resorption without osteoclasts (Osteolysis). In: Mechanisms of hard tissue destruction. Ed. R.F. Sognnaes American Association for the advancement of science, 75, 137 - 144, 1961
- Bennet, R.A.: Tetracycline bone labelling of bone in utero, Lancet, London 1963 / II, S. 467
- Bevelander, G.: The effect of tetracycline in mineralisation and groth. Advances Biol. Med. Phys. N.Y., 1 205 (1954)
- Buyske, D.A., J.H. Eisner und R.G. Kelly: Concentration and persistance of tetracycline and chlortetracycline in bone. J. Pharmacol. Exper. Therap., Baltimore 130, 150 (1960)
- Chapchal, G.: Gevaren von immobilisatie. Ned. Tsch. Geneesk. 104, 1837 (1960)
- Dudley, R.H. and Spiro, D.: The fine structure of bone cells. J. Biophys. biochem. Cytol. 11, 627, 1961
- Duggar, B.M.: Ann. New York Acad. Sci. 51, 177 (1948)
- Eichler, J.: Klinische, physikalisch-chemische und morphologische Untersuchungen zur Inaktivitätsatrophie des Skelets im Wachstumsalter. Habil.Schr. Gießen (1967)
- Eger, W. u. H. van Lessen: Allgemeine morphologische Phy-

- siologie und Pathologie des Knochengewebes unter Berücksichtigung calcipenischer Osteopathien. Internist 3, 267 (1962)
- Eger, W. u. H. van Lessen: Über den nephrogenen Hyperparathyreoidismus, Medizinische, Stuttgart, S. 1120 (1952)
- Eger, W.: Pathologische Anatomie der Osteoporose unter besonderer Berücksichtigung der Mineralstoffwechselvorgänge im Knochengewebe. Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 71 Kongr. J.F. Bergmann, Stuttgart, S. 533 (1965).
- Finerman, G.A.M. u. R.A. Milch: In vitro binding of tetracyclines to calcium, Nature 198, 486 (1963)
- Fleisch, H.: Physiologie und Biochemie der Knochenbildung. Klin. Wschr. 44, 360 (1966)
- Frost, H.M.: Bone remodelling dynamics. Charles C. Thomas Springfield, III. 1963
- Frost, H.M.: Halo volume, part. IV. Measurement of the diffusion pathway between osteocyte lacuna and blood. Henry Ford Hosp. Med. Bull. 9, 137 - 144, 1961
- Frost, H.M. u. A.R. Villanueva: Measurement of osteoblastic activity in diaphyseal bone. Stain Technol., Geneva, N.Y. 35, 179 (1960)
- Frost, H.M. u. A.R. Villanueva u. J.R. Ramsee u. L. Nickl: Knochenbiodynamik bei 39 Osteoporose-Fällen, gemessen durch Tetracyclin. Springer Berlin (1966)
- Geiser, M.: Muskelaktion und Tätigkeit der Knochenwachstumszone, Zschr. Orthop., Stuttgart 89, 194 (1957)
- Haas, H.G.: Knochenstoffwechsel und Parathyreoidea-Erkrankung. G. Thieme Stuttgart (1966)
- Harrison, M., R. Fraser u. B. Mullan: Der Calciumstoffwechsel bei der Osteoporose. Lancet, London I 1015 (1961)
- Helander, S. u. L. Böttiger: On the distribution of terramycin in different tissues. Acta med. Scan. 147, 71 (1953)
- Hilton, H.B. u. I.S. Wallmann: Tetracycline in bone and teeth, Brit. med. U. 1962/II, S. 1403
- Kämmerer, H. u. W. Eger: Tetracycline und Knochenstoffwechsel, Med. Welt Nr. 18, S. 986 (1965) - Z. org. ges. Chir. 187, 319 (1965)

- Keil, A.: Tetracycline-Fluoreszenzmikroskopie, insbesondere der Zähne, Leitz-Mitt. III, 83 (1965)
- Kelly, R.G., L.A. Kanegis u. D.A. Buyske: The metabolism and tissue distribution of radioisotopically labeled demethylchlortetracycline. J. Pharm. Experim. Therap. 134, 320 (1961)
- Klein, M., Frost, H.M. u. Sedlin, E.: Lamellar bone physiology in diabetes mellitus. Diabetes 12, 362 (1963)
- Krompecher, St.: Die Knochenbildung, G. Fischer, Jena (1937)
- Milch, R.A., Rall, R.A. u. Tobie, J.E.: Bone localization of the tetracyclines. J. Nat. Cancer Inst. 19, 8293 (1957)
- Milch, R.A.: Blood supply and the localization of tetracycline fluorescence in arthrotic femoral heads, Arthrit. Rheum. 6, 377 (1963)
- Milch, R.A., J.E. Tobie u. R.A. Robinson: A microscopic study of tetracycline localisation in skeletal neoplasms. J. Histochem. Cytochem. 9, 261 (1961)
- Putschar, W.G.J.: Allgemeine Morphologie und Dynamik des Knochenumbaus unter normalen und pathologischen Bedingungen. Verh. Dtsch. Ges. Path., 47. Tagg., G. Fischer, Stuttgart (1963) S. 112
- Schenk, R.: Zur histologischen Verarbeitung von unentkalkten Knochen. Acta anat. 60, 3 - 19, 1965
- Schenk, R. u. J. Müller: Knochenstruktur und Knochenumbau. Melsunger Med. Pharm. Mitt. 40 H 107, 45 - 67, B. Braun, Melsungen (1966)
- Sedlin, E., Frost, H.M. und Villanueva, A.R.: Measurement of resorption in normal rib by the howship's specific surface index. Anat. Rec. 146, 201 (1963)
- Sedlin, E. u. H.M. Frost: Bone labelling as an index of tetracycline administration. Antibiotics and Chemotherap. Wash. 11, 476 (1962)
- Steedijk, R. und Van den Hooff, A. und Nielsen, H.K.L.: Lesion of the bone matrix in vitamin D -resistant rickets. Nature, 207, 426 - 427, 1965

- Tanner, J.M.: Wachstum und Reifung des Menschen. Georg Thieme, Stuttgart (1962)
- Titus, E.D., Ti Li Loo u. D.P. Pall: Identification of the bone fluorophore in tetracycline-treated rabbits
- Uehlinger, E.: Die Kinetik des Calciumstoffwechsels, Verh. Dtsch. Ges. Path., 47. Tagg. G. Fischer, Stuttgart, S. 63 (1963)
- Urist, M.R., P.S. Zaccalini, N.S. Mac Donald u. W.A. Skoog: New approaches to the problem of osteoporosis (Symposium) J. Bone Surg., Brit. Ed. 44, 464 (1962)
- Urist, M.R., P.S. Zaccalini, N.S. Mac Donald u. W.A. Skoog: New approaches to the problem of osteoporosis (Symposium), J. Bone Surg., Brit. Ed. 106, 151 (1964)
- Villanueva, A.R., Frost, H.M., and Sedlin, E.: Bone formation by the osteoid seam index in normal human ribs. Anat. Rec. 146, 209 (1963)
- Vitali, H.P. u. J. Harder: Zur Differentialdiagnose der wichtigsten generalisierten Skeletkrankheiten, Münch. Med. Wschr. 106, 151 (1964)
- Vonwiller, P.W. Löw u. J. Schilling: Über die Mikrotomie des unentkalkten Knochengewebes, Zschr. wiss. Mikr. 47, 47 (1930)
- Wagner, H.: Präsenile Osteoporose. G. Thieme, Stuttgart (1965)
- Willert, H.G.: Immobilisation-Osteoporose. Melsunger Med. Mittlg. Band 40, S. 123 (1966)
- Winer, B.J.: Statistical Principles in Experimental Design. Mc Graw Hill Book Company, N.Y. San Francisco (1962)

DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. med. H. Rettig für die Überlassung des Arbeitsplatzes in seiner Klinik und für die wohlmeinenden Anregungen danken.

Herrn Priv. Doz. Dr. med. J. Eichler bin ich für die freundliche Überlassung des Themas und die tatkräftige Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit zu aufrichtigem Dank verpflichtet.

Zur Ausarbeitung der Varianzanalysen wandte ich mich an Herrn Dr. D. Beckmann von der Psychosomatischen Klinik, Direktor: Herr Prof. Dr. Richter.

Durch die Mithilfe bei den Tierversuchen und der Herstellung der unentkalkten Knochenschliffe hat Frl. G. Krämer ebenfalls zum Entstehen der Arbeit beigetragen.

Frau Schulze und danach Frl. Paszlock vom Fotolabor waren mir bei der Herstellung der Abbildungen sehr behilflich.

Ihnen allen danke ich herzlich!

LEBENS LAUF

Am 6. September 1942 wurde ich als zweites Kind des Reichsbahnrates Dipl. Ing. Heinrich Scholz und seiner Ehefrau Sophie geborene Gievers in Darmstadt geboren.

Meine Familie lebte von 1942 bis 1943 in Saarbrücken, von 1943 bis 1945 in Waldenburg (Schlesien) und von 1945 bis 1946 in Limburg (Lahn). Im Jahre 1946 wurde mein Vater nach Frankfurt (Main) versetzt. Dort besuchte ich von 1949 bis 1953 die Willemer-Schule und von 1953 bis 1962 die Carl-Schurz-Schule - Gymnasium für Jungen -, an der ich im Frühjahr 1962 die Reifeprüfung bestand.

Nach der Reifeprüfung wurde ich zur Ableistung meiner Wehrpflicht eingezogen, entschied mich jedoch später, ein halbes Jahr länger zu bleiben. Nach 18 Monaten wurde ich zum Leutnant der Reserve befördert. Meine Dienstzeit endete im März 1964.

Im Frühjahr 1964 begann ich an der Justus Liebig-Universität Gießen mit dem Medizinstudium. Nach dem zweiten Semester legte ich die naturwissenschaftliche und nach dem fünften Semester die ärztliche Vorprüfung ab. Am 26.1.1970 bestand ich das Staatsexamen.

Im Dezember 1967 heiratete ich die Fremdsprachensekretärin Traude Rübberdt aus Ellwangen.

Mit der vorliegenden Arbeit begann ich im Januar 1967.

